



УДК 577.113.4

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФОРМАЛЬДЕГИДА С НУКЛЕИНОВЫМИ
КИСЛОТАМИ И ИХ СТРУКТУРНЫМИ КОМПОНЕНТАМИ
В ПРИСУТСТВИИ АМИНОВIV *. ОБРАЗОВАНИЕ N⁶,7-ЦИКЛОАДДУКТОВ АДЕНИНА,
1-МЕТИЛАДЕНИНА И N⁶-МЕТИЛАДЕНИНА С НЕОБЫЧНЫМ
СЕМИЧЛЕННЫМ ЦИКЛОМ КАК ВЕРОЯТНАЯ ПРИЧИНА РАСЩЕПЛЕНИЯ
N-ГЛИКОЗИДНОЙ СВЯЗИ В ДЕЗОКСИАДЕНОЗИНЕ В УСЛОВИЯХ
РЕАКЦИИ МАННИХА*Волков В. С., Поверенный А. М., Свердлов Е. Д.***Институт медицинской радиологии Академии медицинских наук СССР,
Обнинск Калужской обл.;*** Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

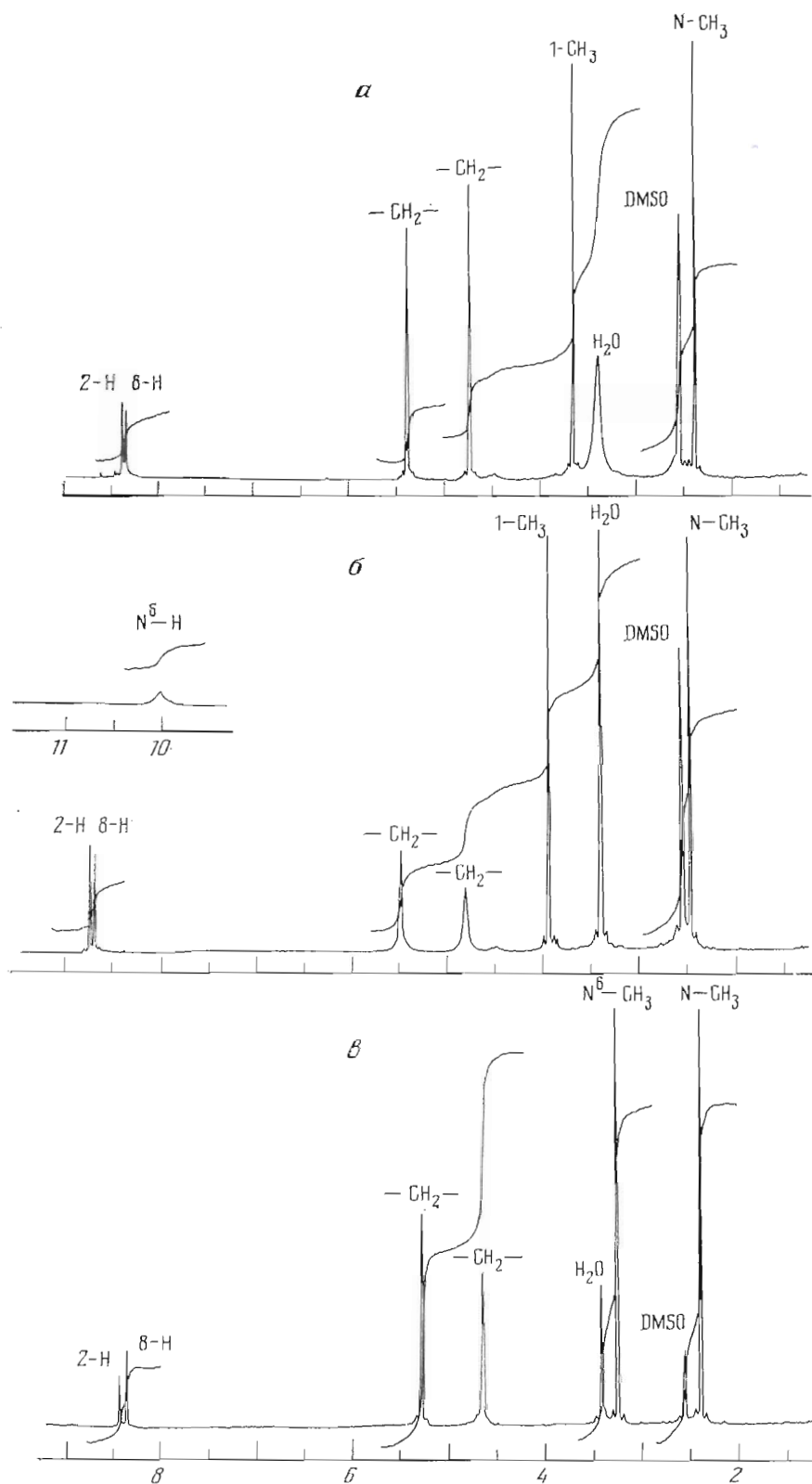
Взаимодействием 1-метиладенина и N⁶-метиладенина с формальдегидом и метил-амином в слабощелочной или слабокислой среде получены неизвестные ранее N⁶,7-циклоаддукты (II) и (VIII) или их хлоргидраты. Показано, что продукты модификации аденина, синтезированные ранее в тех же условиях, представляют собой аналогичный по структуре трициклический N⁶,7-циклоаддукт (XIII) или тетрациклический 1,N⁶; N⁶,7-бициклоаддукт (XXI). Обсуждается возможность специфического расщепления гликозидной связи в дезоксиаденозине при обработке смесью формальдегида и первичного амина через реакцию N⁶,7-циклоконденсации.

Одной из наиболее интересных реакций, протекающих при модификации нуклеиновых кислот с помощью формальдегида и аминов, т. е. в условиях реакции Манниха, является расщепление N-гликозидной связи 2'-дезоксирибозильных производных аденина [2, 3]. Эта A-специфическая реакция была использована для разработки метода определения локализации адениновых нуклеотидов в составе ДНК [4]. Хотя рассматриваемая реакция должна идти при участии атома N3 или N7 пуринового цикла [5], подходы к установлению ее механизма затруднены из-за отсутствия сведений о структуре продуктов модификации рибозильных производных аденина в условиях реакции Манниха. Предпринятые нами попытки выделить продукты аминметилирования 9-замещенных аденинов с целью установления их структуры были неудачными из-за их высокой лабильности. Поэтому для понимания A-специфического расщепления гликозидной связи важное значение приобретают данные о структуре продуктов модификации аденина и других компонентов нуклеиновых кислот.

По данным работ [1, 6, 7], при действии HCHO и первичных аминов основное направление модификации связано с образованием N,N'-циклоаддуктов, имеющих CH₂N(R)CH₂-мостик между экзоциклической аминогруппой и циклическим атомом азота нуклеинового основания. Для цитозина и цитидина это 3,N⁴-циклоаддукты [7], а для 9-замещенных гуанинов — 1,N²-циклоаддукты [1]. В случае незамещенного аденина при аминметилировании CH₃NH₂ были выделены два различных циклоаддукта: с одним или двумя CH₂N(CH₃)CH₂-мостиками [6]. Поскольку структура этих соединений адекватно не была установлена, в данной работе изучено влияние алкилирования аденина по экзоциклической аминогруппе и атому N1 на направление аминметилирования первичными аминами. Показано, что при действии HCHO и CH₃NH₂ на 1-метиладенил, N⁶-метиладенил и незамещенный аденин образуются неизвестные ранее N⁶,7-циклоаддукты.

Препаративный синтез продуктов модификации 1-метиладенина и N⁶-метиладенина проводили в водном растворе действием избытков HCHO

* Сообщение III см. [1].



Спектры ^1H -ЯМР (300 МГц) в $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ соединений (II) — α , (III) — β , (VIII) — γ

Данные спектров ¹H-ЯМР (300 МГц) в (CD₃)₂SO
δ, м. д., относительно внутреннего стандарта Me₄Si

Соединение	1-CH ₃ - или N ⁶ -CH ₃ - группы	Мостик CH ₂ N(CH ₃)CH ₂			2-H	8-H
		CH ₃ -группа	CH ₂ -группа			
m ¹ Ade (I)	3,76	—	—	—	8,16	8,40
m ⁶ Ade (VII)	2,97	—	—	—	8,10	8,22
(II)	3,61	2,35	4,69	5,34	8,31	8,34
(III)	3,90	2,44	4,77	5,45	8,67	8,72
(VIII)	3,21	2,36	4,62	5,24	8,32	8,39
(XIII)	—	2,34	4,68	5,26	8,34	8,40
(XXI)	—	2,52	4,66	5,42	8,54	8,68
		2,60	4,84	5,42		

Таблица 2

Данные УФ-спектров полученных аддуктов и аналоговых триалкиладенинов

Соединение	Растворитель	pH	λ _{max} , нм	ε _{max} ·10 ⁻³	λ _{min} , нм	
1, N ⁶ , N ⁶ -Триметиладенин (V)	Вода	1	293	12,2	244	
		7	298	12,6	257	
		12	301	13,6	262	
N ⁶ , N ⁶ , 7-Триметиладенин (XI)	»	1	293	18,7	250	
		7	291	14,4	246	
		12	291	14,4	246	
1, N ⁶ -Диметиладеинозин (XX)	Вода	1	261	14,2	234	
		—	262	14,9	234	
	MeOH	12	261	15,9	240	
		—	265 *	10,0 *	241 *	
	(II)	MeOH	H ⁺	274	9,0	242
			OH ⁻	271	11,7	240
	(III)	MeOH	H ⁺	265 *	—	241 *
			—	282	—	243
	(VIII)	MeOH	OH ⁻	271	—	240
			H ⁺	292 *	14,8 *	246 *
	(XIII)	MeOH	—	287	13,2	241
			OH ⁻	287	13,0	241
(XXI)	MeOH	H ⁺	290 *	14,6 *	244 *	
		—	285	12,6	238	
(XXI)	MeOH	OH ⁻	283	12,2	238	
		H ⁺	285 *	12,1 *	243,5 *	
		—	284	11,9	241,5	
		OH ⁻	232,5	11,7	242	

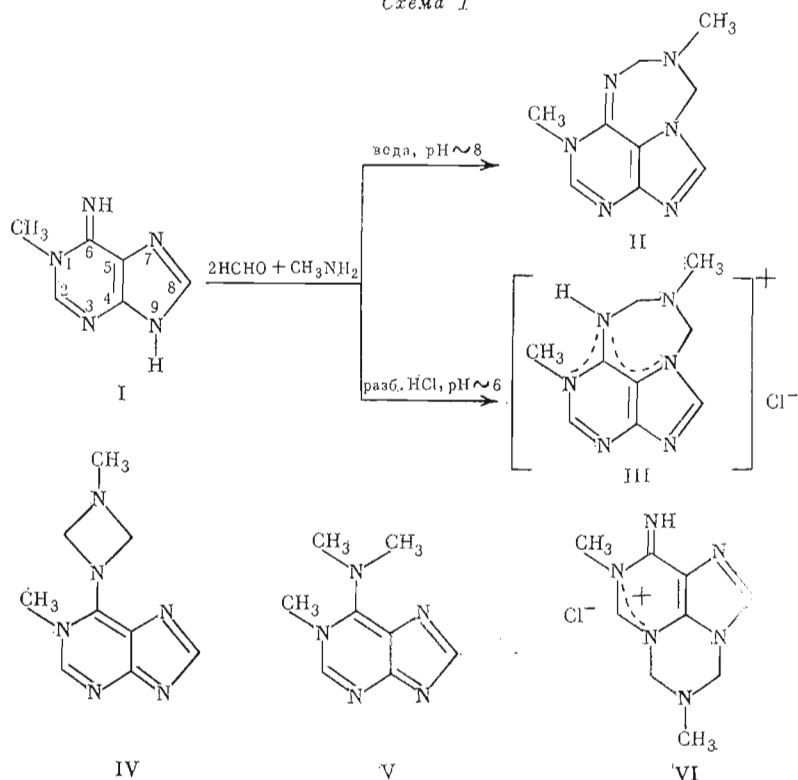
* Соединения (II), (III), (VIII), (XIII), (XXI) неустойчивы в 0,1 н. растворе HCl в MeOH — приведены характеристики первоначально регистрируемого спектра.

и CH₃NH₂ при 20–60° С и двух значениях pH: слабощелочном (~8 при использовании основания CH₃NH₂) и слабокислом (~6, получали подкислением щелочного раствора концентрированной HCl). Эти условия аналогичны использованным при получении модифицированных аденинов [6]. Во всех случаях УФ-спектры продуктов модификации, выделенных в кристаллическом виде с выходом 43–76%, были подобны спектрам, регистрируемым в реакционной смеси до выделения. Поэтому можно полагать, что невысокий выход обусловлен потерей при кристаллизации, а не образованием других продуктов реакции. Строение всех соединений установлено по данным ¹H-ЯМР-спектров (рисунок, табл. 1), УФ-спектров (табл. 2), масс-спектров и элементного анализа.

Структура соединения, полученного взаимодействием 1-метиладенина (I) с HCHO и CH₃NH₂ в щелочном растворе, представлена формулой (II) (схема 1). При аналогичной обработке, но в разбавленном растворе HCl образуется хлоргидрат аддукта (II) (формула III). Спектры ¹H-ЯМР обоих соединений (рисунок, а, б) соответствуют структурам (II) и (III). Из рисунка а видно, что аминометилирование 1-метил-

аденина приводит к третичному основанию Манниха, в котором два исходных протона N—H замещены на группировку $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2$. О ее наличии свидетельствуют сигналы двух изолированных CH_2 -групп (синглеты 2H при 4,69 и 5,34 м.д.) и одной CH_3 -группы при алифатическом атоме азота (синглет 3H при 2,35 м.д.). Небольшое смещение ядерных метиновых протонов 2-Н и 8-Н, протонов 1- CH_3 -группы в сравнении с 1-метиладенином ($\Delta\delta$ 0,06–0,15 м.д., табл. 1), а также интенсивный пик молекулярного иона с m/z 204 (95%) в масс-спектре и данные элементного анализа, вместе взятые, показывают, что соединение, полученное при реакции в слабощелочной среде, является свободным основанием с брутто-формулой $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_6$. Но для свободного основания замещение протонов N—H в 1-метиладенине на $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)\text{CH}_2$ -группировку возможно лишь при условии образования соединения (II) или единственного ему альтернативного, но крайне маловероятного изомера (IV). На очевидную невозможность образования последнего в мягких условиях реакции прямо указывает значительное отличие УФ-спектра полученного соединения (CH_3OH , pH 7: λ_{max} 274, λ_{min} 242 нм) от спектра известного 1, N⁶, N⁶-триметиладенина (V) (вода, pH 7: λ_{max} 298, λ_{min} 257 нм) [8]. Так как производное (V) является УФ-спектральным аналогом структуры (IV), строение выделенного соединения может быть представлено только формулой (II).

Схема 1

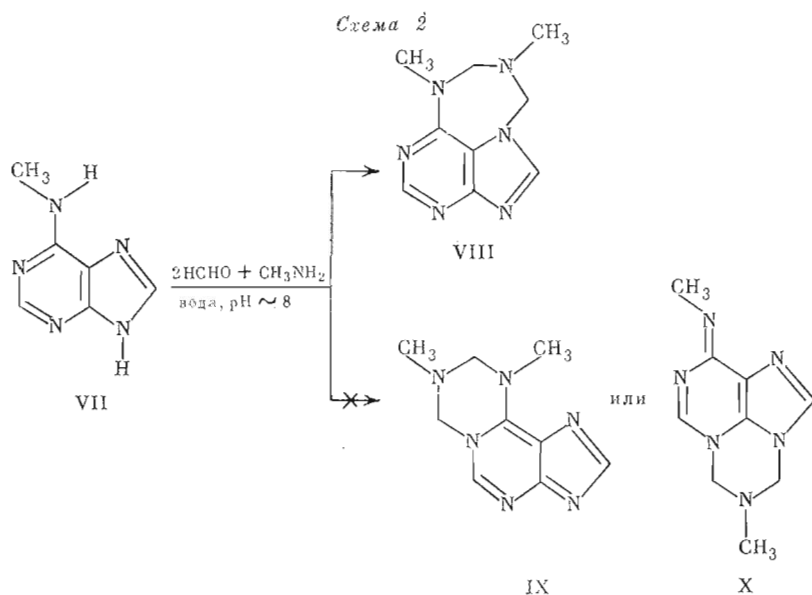


Образование хлоргидрата аддукта (II) (формула III), но не изомерного ему соединения (VI) при реакции 1-метиладенина с HCHO и CH_3NH_2 в разбавленной HCl в первую очередь подтверждается ^1H -ЯМР-спектром (рисунок б), где наряду с сигналами протонов аддукта (II) имеется уширенный сигнал протона N⁶-H при 10,0 м.д. Относительно небольшой слабополюный сдвиг протонов хлоргидрата (III) в сравнении с основанием (II) на 0,08–0,41 м.д. (табл. 1) свидетельствует о делокализации положительного заряда в соединении (III) между атомами N1, N6 и N7. Поэтому приведенный ^1H -ЯМР-спектр соответствует формуле (III) и противоречит изомерной структуре (VI), так как при локализации заряда по участку N1–N3 пуринового ядра сигнал 2-Н-протона в соединении (VI) должен находиться в гораздо более слабом поле,

чем это наблюдается для продукта реакции (синглет при 8,67 или 8,72 м.д.). Для кватернизованных 1,3- и 7,9-диалкилпуринов смещение сигнала протона в таких сегментах в сравнении с моноалкилированными пуринами превышает 1 м.д. Например, для перхлората 7,9-диметиладенина сигналы 2-Н и 8-Н протонов находятся соответственно при 8,40 и 9,50 м.д. [9], а для бромида 1,3-дибензилглюксаиния сигнал 2-Н проявляется при 10,80 м.д., тогда как 8-Н имеет химический сдвиг 8,44 м.д. [10].

Об одинаковом строении аддуктов (II) и (III) также свидетельствует близость ряда их свойств. Во-первых, в масс-спектрах обоих продуктов имеется один и тот же набор ионов с очень близкими интенсивностями. Во-вторых, соединения (II) и (III) имеют одинаковое значение pK_a , поскольку в водных растворах их УФ-спектры идентичны при любом значении pH в диапазоне 1–13. В то же время в растворе CH_3OH или диметилформаида эти спектры различны, но при подкислении или подщелачивании спиртовыми растворами HCl или NaOH становятся идентичными. В-третьих, оба соединения довольно быстро разлагаются водой до 1-метиладенина, причем исчерпывающий гидролиз соединений (II) и (III) приводит к регенерации двух молекул HCHO на одну молекулу 1-метиладенина, а наблюдаемые константы скорости гидролиза в изученном диапазоне pH 2–8 одинаковы, что также свидетельствует об их идентичной структуре. Таким образом, при взаимодействии 1-метиладенина с HCHO и CH_3NH_2 как в слабощелочных, так и в слабокислотных растворах происходит образование нового трициклического соединения с $CH_2N(CH_3)CH_2$ -мостиком между аминогруппой и циклическим атомом азота в положении 7: в зависимости от pH образуется свободное основание (II) или его хлоргидрат (III).

Взаимодействие N⁶-метиладенина (VII) с HCHO и CH_3NH_2 при слабощелочных pH также приводит к N⁶,7-циклоаддукту (VIII) в виде свободного основания (схема 2). О протекании $CH_2N(CH_3)CH_2$ -циклоконденсации свидетельствует масс-спектр, в котором имеется интенсивный пик молекулярного иона с m/z 204 (50%), и ¹H-ЯМР-спектр (рисунок в), где присутствуют сигналы протонов при N6- и N9-атомах. В данном случае свободное основание может быть представлено тремя различными трициклическими системами: N⁶,7-циклоаддуктом (VIII), 1,N⁶-циклоаддуктом (IX) и 3,9-циклоаддуктом (X). Действительная структура выделенного соединения (формула (VIII)) вытекает из УФ-спектров и сопоставления химических сдвигов протонов метиленовых групп образующегося мостика с сигналами CH_3 -групп в известных N-мопометиладенинах.



Сигналы метильных групп при циклических атомах азота в положении 1, 3, 7 и 9 расположены в области 3,8–4,1 м.д. и легко отличимы от более сильнополюсного сигнала N^6 - CH_3 -группы (~3,0 м.д.) [14, 12]. Поэтому довольно большое различие в химических сдвигах метиленовых групп в 1H -ЯМР-спектре полученного соединения ($\Delta\delta$ 0,62 м.д.) не соответствует структуре (X) — для нее следовало бы ожидать более близкого расположения сигналов этих протонов (для CH_2 -групп 3-метиладенина и 9-метиладенина $\Delta\delta$ 0,19 м.д. [11]). Обособленное положение сигнала N^6 - CH_3 -группы говорит о том, что сигнал 4,62 м.д. имеет метиленовая группа, непосредственно связанная с экзоциклической аминогруппой, а слабополюсный сигнал 5,24 м.д. соответствует метиленовой группе при циклических атомах N1 (формула (IX)) или N7 (формула (VIII)). Однако из 1H -ЯМР-спектра вследствие небольшой величины $\Delta\delta$ для CH_2 -групп, расположенных при N1 и N7 (0,16 м.д. [11]), нельзя конкретно определить, по какому атому азота цикла присоединена эта метиленовая группа. Это затруднение легко устранимо при сравнении УФ-спектра полученного соединения со спектрами $N^6, N^6, 7$ -триметиладенина (XI) [8] и $1, N^6, N^6$ -триметиладенина (V) [8], которые по замещению аналогичны соответственно структурам (VIII) и (IX). Из табл. 2, где УФ-спектр искомого соединения дан под шифром (VIII), видно, что для спектров соединений (VIII) и (XI) при переходе от кислых значений pH к нейтральным и щелочным наблюдаются подобные изменения λ_{max} , λ_{min} и молярных коэффициентов поглощения. Хотя характеристики обоих спектров не полностью соответствуют друг другу, это различие несущественно, если сопоставить УФ-спектры соединений (VIII) и (V): видно, что выделенный продукт не может быть $1, N^6, N^6$ -тризамещенным аденином (формула (IX)). Поэтому из трех возможных изомеров (VIII) — (X) только структура (VIII) соответствует совокупности данных 1H -ЯМР- и УФ-спектров.

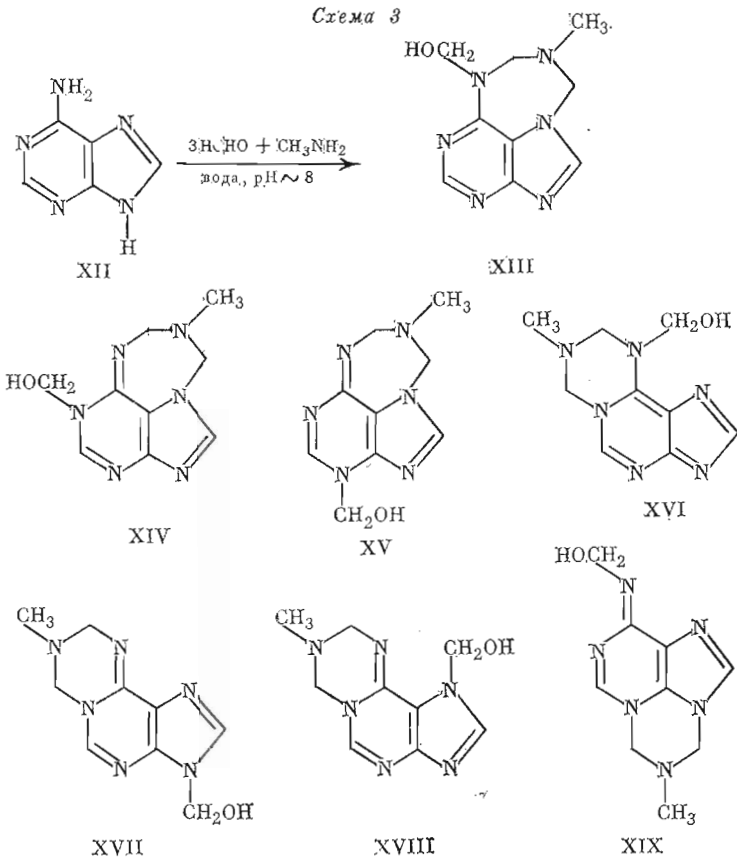
При взаимодействии N^6 -метиладенина с $HCHO$ и CH_3NH_2 в слабкокислой среде была получена смесь продуктов, содержащая ~70% основного компонента (по интенсивности сигналов в 1H -ЯМР-спектре). Свойства основного компонента и аддукта (VIII) оказались близкими. Это видно по практически одинаковым масс- и УФ-спектрам (см. «Экспериментальную часть»), а также одинаковым константам скорости гидролиза в исходный N^6 -метиладенин (водные растворы, pH 2–8). Поскольку в 1H -ЯМР-спектре сигналы основного компонента в сравнении с аддуктом (VIII) смещены в слабые поля на 0,06–0,33 м.д., по аналогии с реакциями 1-метиладенина можно полагать, что основной компонент представляет собой хлоргидрат аддукта (VIII). (Разделение смеси, а также оптимизацию условий обработки для реакций N^6 -метиладенина при кислых pH в дальнейшем не проводили.)

Полученные данные о новых соединениях (II) и (VIII) позволили пересмотреть строение двух продуктов модификации аденина (XII), описанных в сообщении [5]. Хотя было правильно установлено, что продукт модификации, полученный обработкой $HCHO$ и CH_3NH_2 при слабощелочном pH, является свободным основанием, в котором все три протона N—H аденина замещены на $CH_2N(CH_3)CH_2$ -мостик и $HOCH_2$ -группу, конкретное положение заместителей определить не удалось. Здесь показано, что структура этого соединения должна быть представлена формулой (XIII) (схема 3).

Для свободного основания при замещении N—H-протонов на указанные заместители в принципе возможны 11 изомеров: три $N^6, 7$ -циклоаддукта (XIII) — (XV), три $1, N^6$ -циклоаддукта (XVI) — (XVIII), один $3, 9$ -циклоаддукт (XIX) и четыре N^6, N^6 -циклоаддукта (типа IV, формулы не приведены). Рассмотрение каждого из этих изомеров показывает, что только структура (XIII) полностью соответствует спектральным свойствам выделенного соединения.

Сразу обращает на себя внимание сходство предлагаемой структуры (XIII) со структурой продукта модификации N^6 -метиладенина (VIII), полученного в тех же условиях. Действительно, очень близкие химиче-

Схема 3



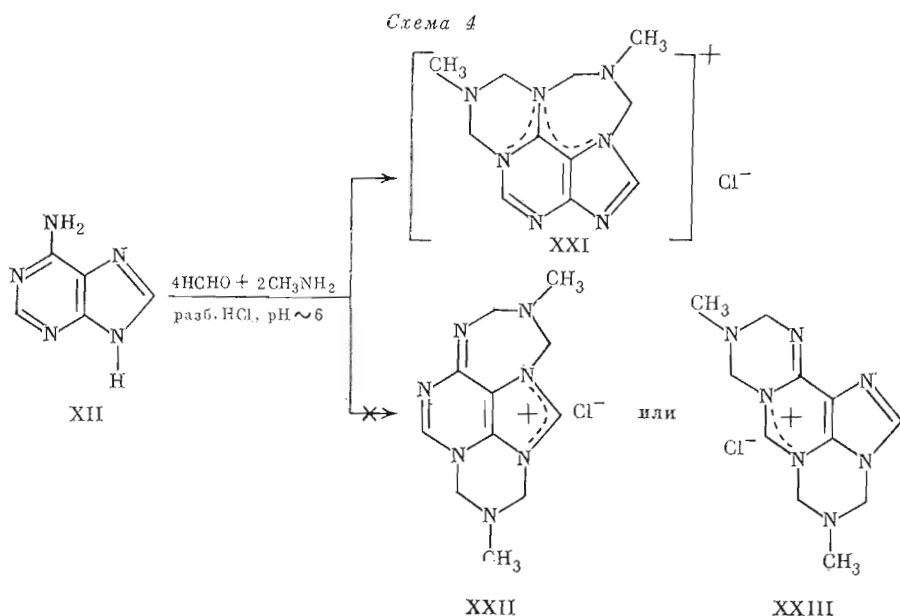
ские сдвиги протонов 2-Н, 8-Н и CH₂N(CH₃)CH₂-мостика в ¹H-ЯМР-спектрах аддуктов (VIII) и (XIII) ($\Delta\delta$ сигналов соответствующих протонов в пределах 0,01–0,06 м.д., табл. 1), а также аналогичные изменения УФ-спектров этих соединений (табл. 2) при переходе от кислых к нейтральным и щелочным pH при довольно близких значениях λ_{\max} , λ_{\min} и молярных коэффициентов погашения, вместе взятые, характеризуют соединения (VIII) и (XIII) как подобные структуры с одинаковым положением заместителей в адениновом ядре.

Остальные 10 изомеров не соответствуют имеющимся данным. Так, структуры (XIV) и (XVIII) по положению заместителей аналогичны аддукту (II) и легко отвергаются на основании УФ-спектра (см. данные для (II) и (XIII) в табл. 2). Структуры (XVI) и (XVII) также невозможны, поскольку их соответствующие аналоги, 1,N⁶,N⁶-триметиладенин (V) [8] и 1,N⁶-диметиладенозин (XX) [13], имеют УФ-спектры, крайне отличные от спектра выделенного соединения (ср. данные для соединений (XIII), (V) и (XX), табл. 2). Хотя нам неизвестны УФ-спектры 3,N⁶,7- и 3,N⁶,9-триалкиладенинов, являющихся аналогами соответственно структур (XV) и (XIX), против последних имеются следующие возражения. Так, соединение (XIX) по замещению подобно структуре (X) и мало вероятно по причинам, которые рассмотрены выше при обсуждении строения аддукта (VIII). Остается сравнить структуры (XIII) и (XV), различающиеся только расположением HOCH₂-группы. Положение сигнала OCH₂N-группы в ¹H-ЯМР-спектре аддукта (дублет 5,23–5,26 м.д. [5]) следует трактовать в пользу структуры (XIII), но не изомера (XV). При сравнении ¹H-ЯМР-спектров N⁶-метиладенина с аддуктом (VIII) (табл. 1) и N⁶-метилдезоксаденозина с N⁶,N⁶-диметилдезоксаденозина [12] видно, что сигналы α -протонов N⁶-заместителя при последующем алкилировании по этому же атому азота претерпевают слабополюный сдвиг на ~0,25 м.д. По аналогии сигнал метиленовых протонов N⁶-гидрокси метилдезоксаденозина (химический

сдвиг 4,93 м.д. [14]) после введения второго алкила по аминогруппе должен иметь сдвиг $\sim 5,18$ м.д., что близко к положению сигнала метиленовых протонов НОСН₂-группы обсуждаемого соединения (дублет 5,23--5,26 м.д.). Такое совпадение не в пользу изомера (XV), поскольку в таком соединении сигнал метиленовых протонов НОСН₂-группы должен проявляться в более слабом поле (вероятно, $\sim 5,9$ м.д. ввиду $\Delta\delta$ 1,0 м.д. для СН₃-группы 3-метиладенина и N⁶-метиладенина, имеющих сигналы при 4,0 и 3,0 м.д. соответственно [11, 12]).

Таким образом, из приведенных структур (XIII)–(XIX) данным ¹Н-ЯМР- и УФ-спектров адекватно соответствует только формула (XIII). Нерассмотренные четыре «шелогичных» N⁶,N⁶-циклоаддукта с СН₂N(СН₃)СН₂-группой, замыкающейся на аминогруппу аденина, легко опровергаются на основании изложенного выше.

В отличие от модификации 1-метиладенина и N⁶-метиладенина взаимодействие аденина с НСНО и СН₃NH₂ при слабокислых рН приводит не к хлоргидрату соединения (XIII), а к хлориду с двумя СН₂N(СН₃)СН₂-мостиками [5]. Из трех возможных изомеров (XXI)–(XXIII) данным ¹Н-ЯМР-спектра отвечает только тетрацикл (XXI) (схема 4). Действительно, согласно [9, 10], сигналы протонов аденинового ядра 8-Н аддукта (XXII) и 2-Н аддукта (XXIII) должны находиться в гораздо более слабом поле ($>9,5$ м.д.). Положение же сигналов этих протонов (8,54 и 8,68 м.д.), а также протонов метильных и метиленовых групп (табл. 1) полученного аддукта свидетельствует о делокализации положительного заряда в бисциклоаддукте (XXI) по сегменту атомов N1, N⁶ и N7 аденинового ядра.

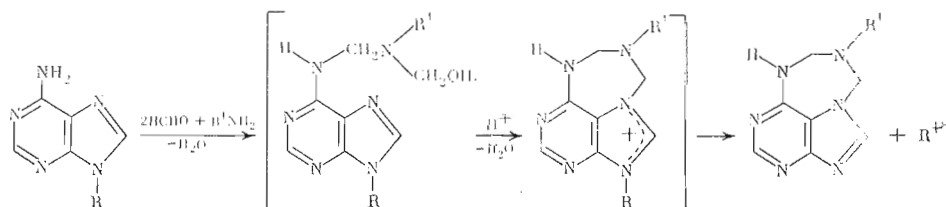


Таким образом, при взаимодействии аденина с НСНО и СН₃NH₂ в слабощелочной или слабокислой среде идут реакции циклоконденсации с образованием трициклического аддукта (XIII) или тетрациклического аддукта (XXI), а монометилирование аденина по аминогруппе или атому N1 не препятствует основному направлению реакции аминотетилирования — N⁶,7-циклоконденсации. По данным УФ-спектров, такие же продукты образуются при модификации аденина, 1-метиладенина и N⁶-метиладенина в условиях реакции Манниха с другими первичными аминами (аминокислоты, этаноламин, бутиламин). Именно в этих условиях происходит расщепление N-гликозидной связи в дезоксиаденозине и дезоксиаденозин-5'-фосфате [1–3, 6], причем, по данным [5], при слабокислых значениях рН конечным продуктом, вероятно, является соединение (XXI). Хотя при аминотетилировании вторичными аминами нам не

удалось выделить и идентифицировать продукты модификации аденина, 1-метиладенина и N⁶-метиладенина из-за их высокой лабильности, изменения УФ-спектров в ходе обработки свидетельствуют о том, что при использовании вторичных аминов реакции аминометилирования по атомам N3 и N7, по-видимому, не идут. Стабильность гликозидной связи в дезоксиадепозине при действии HCHO и вторичных аминов [6] указывает на отсутствие модификаций по N3 и N7 и в случае 9-замещенных аденинов. Поэтому наиболее существенным представляется вывод о том, что специфическое расщепление N-гликозидной связи в 2'-дезоксирибозильных производных аденина, протекающее при обработке HCHO и первичными алифатическими аминами, вероятно, связано с образованием N⁶,7-циклоаддуктов. Возможный механизм этой реакции представлен на схеме 5.

В настоящее время мы не располагаем данными, позволяющими провести подробное обсуждение механизма реакции расщепления N-гликозидной связи, но можно полагать, что образование промежуточного N⁶,7-циклоаддукта идет через первичное аминометилирование по экзотрициклической аминогруппе с последующей внутримолекулярной циклизацией по атому N7, поскольку стабильность дезоксиадепозина при обработке HCHO и вторичными аминами говорит об отсутствии прямых реакций аминометилирования как по N3, так и по N7.

Схема 5



R — остаток дезоксирибозы

Экспериментальная часть

Спектры ¹H-ЯМР (300 МГц) в (CD₃)₂SO соединений (II) — а, (III) — б, (VIII) — а внутренним стандартом тетраметилспланом, масс-спектры — на приборе MAT 212 Varian, УФ-спектры — на спектрофотометре SP 8000 Рус Unicam.

В работе использовали аденин (Chemapol, СССР), дезоксиадепозин (Sigma, США), 37% водный раствор формальдегида, стабилизированный 10% метапола (Merck, ФРГ).

Исходные 1-метиладенин и N⁶-метиладенин синтезировали из дезоксиадепозина через соответствующие 1-метил- и N⁶-метилдезоксиадепозины с последующим кислотным гидролизом по методу [15]. Их строение подтверждено УФ- и ¹H-ЯМР-спектрами, масс-спектрами и элементным анализом.

Аддукт (II). К смеси 2 мл 37% водного HCHO, 1,2 мл 4 М спиртового раствора CH₃NH₂ и 6 мл воды прибавляли 100 мг 1-метиладенина и нагревали при 60°С до полного растворения осадка. Раствор выдерживали 4 ч при 20°С, концентрировали в вакууме до объема 1,5—2 мл, затем прибавляли 20 мл абс. этанола и снова концентрировали до объема 1,5 мл. При добавлении эфира образовался маслянистый осадок, который после декантации маточного раствора растворяли в 5 мл абс. этанола, фильтровали, фильтрат концентрировали и снова добавляли эфир до образования маслянистого осадка. Растворение в этаноле и осаждение эфиром повторяли еще 2 раза. Остаток растворяли в минимальном объеме абс. этанола, концентрировали до 0,5 мл (или до начала выпадения осадка), выдерживали 2 сут при -10°С, осадок промывали эфиром и высушивали в вакууме. Получали 64 мг (43%) соединения (II). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %): 205 (13), 204 (95), 203 (17), 189 (16), 163 (36), 162 (22), 161 (12), 160 (67), 149 (15), 135 (11), 134 (100), 133 (9), 107 (67). Найдено, %: С 48,34, Н 6,09, N 38,00. С₉H₁₂N₆·H₂O. Вычислено, %: С 48,64, Н 6,35, N 37,81.

Хлоргидрат (III). Смесь 6 мл воды, 2 мл 37% водного HCHO и 1,2 мл 4 М спиртового раствора CH₃NH₂ подкисляли конц. HCl до pH 6, добавляли 100 мг 1-метиладенина и обрабатывали как указано выше. Получили 118 мг (64%) хлоргидрата (III). Масс-спектр, *m/z* (*I*, %): 205 (5), 204 (50), 203 (8), 189 (8), 163 (24), 162 (18), 161 (13), 160 (60), 149 (35), 135 (15), 134 (100), 133 (15), 107 (70). Найдено, %: С 44,84, Н 5,73. С₉H₁₂N₆·HCl. Вычислено, %: С 44,91, Н 5,44.

Аддукт (VIII) синтезировали из N⁶-метиладенина аналогично соединению (II) с выходом 73%. Масс-спектр: 205 (8), 204 (50), 175 (14), 162 (12), 161 (36), 160 (10),

148 (80), 135 (11), 134 (80), 133 (12), 107 (100). Найдено, %: С 52,79, Н 5,80, N 41,88. $C_6H_{12}N_6$. Вычислено, %: С 52,93, Н 5,92, N 41,15.

Модификация N⁶-метиладенина при pH 6. Обработку проводили аналогично синтезу соединения (III). Из 80 мг N⁶-метиладенина получено 83 мг смеси. УФ-спектр: λ_{max} 278, λ_{min} 243 (pH 7); λ_{max} 287, λ_{min} 243 нм (0,1 н. NaOH). ¹H-ЯМР (сигналы основного компонента): 8,72 (с, 1H), 8,62 (с, 1H), 5,40 (с, 2H), 4,84 (с, 2H), 3,10 (с), 2,42 (с). Масс-спектр: 205 (6), 204 (48), 175 (12), 162 (12), 161 (38), 160 (10), 148 (45), 135 (12), 134 (82), 133 (11), 107 (100).

Авторы выражают благодарность М. Ф. Турчинскому (ИБХ АН СССР) за полезное обсуждение и замечания при написании статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков В. С., Поверенный А. М., Свердлов Е. Д. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 2. С. 204–212.
2. Семин Ю. А., Коломыйцева Е. Н., Поверенный А. М. // Биоорган. химия. 1975. Т. 1. № 3. С. 317–327.
3. Коломыйцева Е. Н., Семин Ю. А., Поверенный А. М. // Молекуляр. биология. 1978. Т. 12. № 6. С. 1231–1238.
4. Sverdlov E. D., Monastyrskaya G. S., Poverenny A. M., Siomin Yu. A., Kolomyitseva E. N. // FEBS Lett. 1979. V. 108. № 2. P. 427–429.
5. Кочетков Н. К., Будовский Э. И., Свердлов Е. Д., Симукова Н. А., Турчинский М. Ф., Шибанов В. П. Органическая химия нуклеиновых кислот. М.: Химия, 1970. С. 495–499.
6. Волков В. С., Поверенный А. М., Свердлов Е. Д. // Молекуляр. биология. 1985. Т. 19. № 3. С. 693–702.
7. Волков В. С., Поверенный А. М., Свердлов Е. Д. // Молекуляр. биология. 1983. Т. 17. № 6. С. 1318–1323.
8. Townsend L. B., Robins R. K., Loeppky R. N., Leonard N. J. // J. Amer. Chem. Soc. 1964. V. 86. № 23. P. 5320–5325.
9. Fuiji T., Tanaka F., Mohry K., Itaya T., Suito T. // Tetrahedron Lett. 1973. № 49. P. 4873–4876.
10. Montgomery J. A., Hewson K., Clayton S. J., Thomas H. J. // J. Org. Chem. 1966. V. 31. № 7. P. 2202–2210.
11. Beasley A. E., Rasmussen M. // Austr. J. Chem. 1981. V. 34. P. 1107–1116.
12. Engel J. D., von Hippel P. H. // Biochemistry. 1974. V. 13. № 20. P. 4143–4158.
13. Broom A. D., Townsend L. B., Jones J. W., Robins R. K. // Biochemistry. 1964. V. 3. № 4. P. 494–500.
14. Beland E. A., Fullerton N. F., Hejlich R. H. // J. Chromatogr. 1984. V. 308. P. 121–131.
15. Jones J. W., Robins R. K. // J. Amer. Chem. Soc. 1963. V. 85. № 2. P. 193–201.

Поступила в редакцию
31.VII.1986

После доработки
20.I.1987

INTERACTION OF FORMALDEHYDE WITH NUCLEIC ACIDS AND THEIR STRUCTURAL COMPONENTS IN THE PRESENCE OF AMINES. IV. FORMATION OF N⁶,7-CYCLOADDUCTS OF ADENINE, 1-METHYLADENINE AND N⁶-METHYLADENINE WITH UNUSUAL SEVEN-MEMBERED RING AS POSSIBLE REASON OF N-GLYCOSIDIC BOND CLEAVAGE IN DEOXYADENOSINE UNDER THE MANNICH REACTION CONDITIONS

VOLKOV V. S., POVERENNY A. M., SVERDLOV E. D.*

*Scientific Research Institute of Medical Radiology, Obninsk, Kaluga Region;
* M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Interaction of 1-methyladenine or N⁶-methyladenine with formaldehyde and methylamine in aqueous solutions has yielded new seven-membered N⁶,7-cycloadducts with CH₂N(CH₃)CH₂ bridge between the exocyclic amino group and cyclic N7 atom as free bases (III, VIII) or hydrochlorides (IV) in weakly alkaline (pH 7,5–9) or acid conditions (pH 5–6,5), respectively. Structures of these compounds have been established on the basis of UV, ¹H-NMR and mass-spectrometry data, which also allowed us to reconsider structures of adenine modifications described in our previous paper. It turned out that unsubstituted adenine interacts with HCHO and MeNH₂ in weakly alkaline solution to give three-cyclic N⁶,7-adduct (XII), whereas in dilute HCl tetracyclic 1,N⁶; N⁶,7-bisadduct (XXI) is formed containing two CH₂N(CH₃)CH₂ bridges. Possibility of the A-specific cleavage of N-glycosidic bond in deoxyadenosine through N⁶,7-cyclocondensation is discussed.